



Docket No.: H6808.0051/P051
(PATENT)

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Patent Application of:
Toshio Hanada et al.

Application No.: 10/812,004

Confirmation No.: 2652

Filed: March 30, 2004

Art Unit: N/A

For: CAPILLARY ARRAY AND CAPILLARY
ELECTROPHORESIS APPARATUS

Examiner: Not Yet Assigned

CLAIM FOR PRIORITY AND SUBMISSION OF DOCUMENTS

MS Missing Parts
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Dear Sir:

Applicant hereby claims priority under 35 U.S.C. 119 based on the following
prior foreign application filed in the following foreign country on the date indicated:

<u>Country</u>	<u>Application No.</u>	<u>Date</u>
Japan	2003-095302	March 31, 2003

Application No.: 10/812,004

Docket No.: H6808.0051/P051

In support of this claim, a certified copy of the said original foreign application is filed herewith.

Dated: August 2, 2004

Respectfully submitted,

By 

Mark J. Thronson

Registration No.: 33,082

DICKSTEIN SHAPIRO MORIN &
OSHINSKY LLP

2101 L Street NW

Washington, DC 20037-1526

(202) 785-9700

Attorney for Applicant

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 3 年 3 月 3 1 日
Date of Application:

出 願 番 号 特 願 2 0 0 3 - 0 9 5 3 0 2
Application Number:
[ST. 10/C] : [J P 2 0 0 3 - 0 9 5 3 0 2]

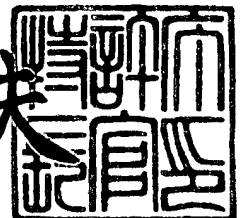
出 願 人 株式会社日立ハイテクノロジーズ
Applicant(s):

CERTIFIED COPY OF
PRIORITY DOCUMENT

2 0 0 4 年 4 月 2 7 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康 夫



出証番号 出証特 2 0 0 4 - 3 0 3 6 3 1 3

(Translation)



PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

This is to certify that the annexed is a true copy of
the following application as filed with this Office.

Date of Application: March 31, 2003

Application Number: Japanese Patent Application
No. 2003-095302

Applicant(s): Hitachi High-Technologies Corporation

April 27, 2004

Commissioner,
Patent Office

Yasuo IMAI (seal)

Certificate No. 2004-3036313

【書類名】 特許願

【整理番号】 NT03P0173

【提出日】 平成15年 3月31日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 G01N 27/447

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県ひたちなか市大字市毛 8 8 2 番地 株式会社日立
ハイテクノロジーズ 設計・製造統括本部 那珂事業所
内

【氏名】 花田 俊男

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県ひたちなか市大字市毛 8 8 2 番地 株式会社日立
ハイテクノロジーズ 設計・製造統括本部 那珂事業所
内

【氏名】 伊名波 良仁

【特許出願人】

【識別番号】 501387839

【氏名又は名称】 株式会社日立ハイテクノロジーズ

【代理人】

【識別番号】 100068504

【弁理士】

【氏名又は名称】 小川 勝男

【電話番号】 03-3661-0071

【選任した代理人】

【識別番号】 100086656

【弁理士】

【氏名又は名称】 田中 恭助

【電話番号】 03-3661-0071

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 081423

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 キャピラリアレイ及びキャピラリ電気泳動装置

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 試料を分離する分離媒体を保持する複数のキャピラリと、該キャピラリの整列を維持する検出部と、該キャピラリの片端にキャピラリを束ねて保持するキャピラリヘッドと、該キャピラリの試料注入端に設けられた絶縁性ホルダと、該ホルダに固定され互いに電氣的に接続され上記キャピラリの試料注入端が挿入される管状電極と、該ホルダ上部に配置されて接続板と管状電極の接触部位を他の部位より遮断するフタとを有するロードヘッドと、該ロードヘッドの接続板とホルダ、フタ及び管状電極が実質的に隙間無く密着しているキャピラリアレイ。

【請求項 2】 請求項 1 記載のキャピラリアレイであって、ロードヘッドのホルダと接続板の間又は接続板とフタの間、あるいはその両方に充填材が存在するキャピラリアレイ。

【請求項 3】 請求項 2 記載のキャピラリアレイであって、上記充填材が高熱伝導性であるキャピラリアレイ。

【請求項 4】 請求項 3 記載のキャピラリアレイであって、接続板に替えてロードヘッド内部に導電性樹脂が存在し、管状電極を互いに電氣的に連結し、ホルダ、フタ及び管状電極の間が実質的に隙間なく密着しているキャピラリアレイ。

【請求項 5】 請求項 1 ないし 4 のいずれかに記載のキャピラリアレイと、該キャピラリアレイの検出部に光照射し蛍光物質で標識された試料に由来する蛍光を検出する分光器を有した照射検出装置と、該キャピラリアレイに分離媒体を注入する機構であるポンプユニットと、該キャピラリの試料注入端と管状電極の先端を浸す第一緩衝液槽と、該ポンプユニットと接続された第二緩衝液槽と、該キャピラリアレイと該第一及び第二緩衝液槽を含む導通路に電圧を印加する電源を持つマルチキャピラリ電気泳動装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、蛍光標識された核酸等の試料を、複数のキャピラリーを用いて同時に分離・解析を行なうマルチキャピラリー電気泳動装置及びそれに用いられるキャピラリーアレイに関する。

【0 0 0 2】**【従来の技術】**

特開 2 0 0 2 - 3 6 5 2 6 2 号公報（特許文献 1）には、マルチキャピラリー電気泳動装置に取り付けて使用するキャピラリーアレイの構造や製造方法が開示されている。

【0 0 0 3】

キャピラリーアレイは、複数のキャピラリーと、該キャピラリーの長さ方向の途中に該キャピラリーの整列を維持し該キャピラリーに光を照射するための開口と該キャピラリーより試料に依存した情報を検出する開口を持ったウインドウユニットを備える。また、キャピラリーの片端にはキャピラリーを束ねて保持するキャピラリーヘッドを備える。該キャピラリーの試料注入端には絶縁体のホルダと、ホルダに固定された管状電極と、ホルダ内部で管状電極を互いに接続する接続板を備える。そして、ホルダ上部に配置されて接続板と管状電極の接触部位を装置の他部位より遮断するフタよりなるロードヘッドを備えている。

【0 0 0 4】

該ロードヘッドは、管状電極が絶縁性の部材よりなるホルダに固定されており、キャピラリーがそれぞれ対応する管状電極の内部に挿入されている。管状電極は導電性の部材よりなる接続板で互いに連結され、接続板が電気泳動装置本体の高電圧端子に接触し、複数のキャピラリーに一樣な電圧を同時に負荷することができる。

【0 0 0 5】**【特許文献 1】**

特開 2 0 0 2 - 3 6 5 2 6 2 号公報（要約）

【0 0 0 6】**【発明が解決しようとする課題】**

ロードヘッダは絶縁性の樹脂よりなるホルダに管状電極が固定され、その管状電極にキャピラリが挿入されている。管状電極は、導電性部材よりなる接続板で、互いに連結され、全てのキャピラリに同時に電圧が印加できる構造となっている。

【0 0 0 7】

接続板と管状電極の接触部位を含む導電性部位は、ホルダ上部に設けられたフタによって装置の他部位から遮断され、放電あるいは感電しないように安全性を確保している。このような構造では、ロードヘッダ内部の接続板とホルダ及びフタとの間に空気層が存在している。

【0 0 0 8】

電気泳動時の電圧印加によりキャピラリからジュール熱が発生する。各々のキャピラリから発生するジュール熱はほぼ等しいが、ロードヘッダではキャピラリが格子状に配置されており、ロードヘッダ外側に位置するキャピラリは周囲の部品に熱が伝達し易いため、内側（中央部）に位置するキャピラリよりも温度が下がる。一方、内側に位置するキャピラリは、周囲の部材に熱を伝達することが困難なため、放熱されにくく、高温状態が維持される。

【0 0 0 9】

さらに、ロードヘッダ内部には、接続板とホルダ、フタ及び管状電極との間に空気層が存在することにより断熱効果が生まれ、熱の放散をいっそう妨げている。

【0 0 1 0】

従って、ロードヘッダ内のキャピラリの位置によって温度勾配が生じ、キャピラリ間に電気泳動速度や分離能にばらつきを生じさせる。

【0 0 1 1】

本発明の目的は、電気泳動によりマルチキャピラリを備えたロードヘッダ内部に発生する熱を効果的に発散あるいは引き出すことである。

【0 0 1 2】

【課題を解決するための手段】

本発明は、前記ロードヘッダ内部の空気層を極力排除することに関する。また

、前記ロードヘッドと前記接続板を、高熱伝導性部材を介して接触することに関する。これにより、ロードヘッド内部に発生するジュール熱を効果的に発散させたキャピラリアレイ及び電気泳動装置を提供する。

【0013】

以下、上記及びその他の本発明の新規な特徴と効果につき、図面を参酌して説明する。

【0014】

【発明の実施の形態】

電気泳動装置の分離能評価の指標としてはクロスオーバーポイント（COP）がある。COPは検出部における1塩基相当分の分離長と、検出されたピーク幅の半値が等しくなる時の塩基長を示しており、この値が大きいほど分離能が高いことを示している。本発明では、96本のキャピラリの平均値を求めて分離能の指標とした。

【0015】

電気泳動結果のキャピラリ間でのばらつきを示す指標として、COPの（最大値－最小値）／平均値を計算した。この値が小さいほどキャピラリ間のばらつきが小さいことを示す。

【0016】

特許文献1記載の構造を持ち、キャピラリ長さが21cmのとき、COP平均値は167、各キャピラリより得られたCOPの（最大値－最小値）／平均値の値は2.0であった。各キャピラリの電気泳動結果をロードヘッド上の位置に従って並べたものを図7（a）に示す。なお、図7（b）は本発明の実施例による電気泳動結果を示す。

【0017】

図7（a），（b）において、色彩の濃い部分（①、②）は分離された塩基数で示した分離能が低いことを示す。反対に、着色の低いほど（③、④）塩基数が大きく、分離能が高いことを示す。例えば、白色の領域④は分離された塩基数が300－400である。

【0018】

ロードヘッド中央部に位置するキャピラリの分離能が、外側に位置するキャピラリの分離能に比べて低いことがわかる。

【0019】

本発明では、電気泳動時のキャピラリの発熱によってロードヘッド内部に生じた熱の発散を妨げる空気層をなくすことにより、キャピラリからの熱放散、冷却を促進させ、キャピラリ間の温度ばらつきを減らす。それにより、電気泳動時における分離能や泳動時間のばらつきを低減する。ロードヘッドでは管状電極が絶縁体のホルダによって保持され、各キャピラリの試料注入端がそれぞれ対応する管状電極の内部に挿入されている。

【0020】

キャピラリが挿入された管状電極は導電性の部材よりなる接続板によってホルダ内部で互いに連結されており、接続板が電気泳動装置本体の高電圧端子に接触することで、複数のキャピラリに一樣な電圧を同時に負荷することができる。ホルダ上部には絶縁性部材よりなるフタが設けられており、接続板と管状電極の接触部位を含む導電性部位を覆うことにより、導電性部位を装置の他部位から遮断して放電あるいは感電を防ぎ、安全性を維持している。

【0021】

ロードヘッド内部の空気層を排除するためには、ホルダと接続板、フタ、および管状電極を隙間無く密着させることが望ましい。接続板の素材は導電性の部材であれば何でも良いが、たとえば導電性ゴムのような柔軟性の高い部材を用いればホルダとフタ及び管状電極を弾性力で密着させることができる。

【0022】

もちろん接続板とホルダ、フタ及び管状電極との接触面に熱伝導性グリース等を塗布して密着させても良い。また、ロードヘッド内部に樹脂等の充填剤を充填してもよい。充填場所は接続板とホルダの間、または接続板とホルダの間、あるいはこの両方でも良い。

【0023】

さらに、充填材に導電性の樹脂を使用すれば、接続板に替えてロードヘッド内部に充填された導電性樹脂が管状電極を互いに電氣的に連結し、かつホルダ、フ

タ、管状電極を実質的に隙間なく密着させることができる。これらの方法によってロードヘッド内部の空気層が十分に排除され、キャピラリより発生するジュール熱を効率よく外部に引き出すことができる。上記充填材は空気よりも熱伝導率の高い物質であることが望ましい。

【0024】

また、この充填材はキャピラリからの熱を効率よく拡散するために、熱容量の大きな物質であることが望ましい。充填材単体で用いても良いが、熱伝導性を高めるために、種々の材料との組み合わせや、かかる材料を充填材に添加して使用しても良い。添加物としては、たとえばシリカ、アルミナ等の無機粉末や、ニッケル、銅等の金属粉末が挙げられる。充填材は上記のような樹脂又はグリースのような液体でも良い。これらは高熱伝導性であることが望ましい。

【0025】

〔実施例1〕

図2に本発明が適用されるマルチキャピラリ電気泳動装置の概略を示す。キャピラリアレイ1の試料注入端はロードヘッド2を形成し恒温槽3の下部に固定されている。ロードヘッド2には負電圧を印加できるように電源4が接続されている。キャピラリ内部に試料を導入する際にはキャピラリが挿入された管状電極19を試料溶液に、またキャピラリ内部に注入した試料の電気泳動を行なう際には第一緩衝液槽5の緩衝液6に浸して負電圧を印加する。

【0026】

キャピラリの方の末端部は束ねられてキャピラリヘッド8を形成し、分離媒体注入機構であるポンプユニット9に接続されている。キャピラリアレイのロードヘッドからウインドウユニット7までの区間は恒温槽内に収容され、電気泳動中の温度管理が行なわれる。ポンプユニットは第二緩衝液槽10に接続されている。

【0027】

第二緩衝液槽にはキャピラリを挿入する電源電極11が設けられており、第一緩衝液槽ーキャピラリアレイー第二緩衝液槽と続く一連の導通路を形成する。キャピラリに分離媒体を注入する際には、ポンプユニット9に設けられたバルブ1

2を閉め、シリンジ13を押し込むことによって、シリンジ内部の分離媒体をキャピラリー内部に注入する。電気泳動時にはバルブを開放し、前記の導通路に電圧を印加する。

【0028】

図3は図2におけるキャピラリーアレイの外観を示す。キャピラリー14は外面がポリイミドで被覆された外径0.1～0.7mm内径0.02～0.5mmの石英ガラス管であり、複数本のキャピラリー（数本から数十本が一般的である）を配列しキャピラリーアレイを構成する。

【0029】

キャピラリーアレイは、蛍光標識された核酸等の試料を電気泳動によってキャピラリー内部に取り込むロードヘッダ2、キャピラリー14の長さ方向の途中で配列を維持し光照射と信号の検出を行なう開口部を備えたウインドウユニット16、キャピラリーを束ね接着したキャピラリーヘッド17を備えている。本発明において、上記キャピラリーアレイのウインドウユニットと該ウインドウユニットの照射部からの蛍光を検出する分光器を備えた照射検出装置としては従来公知のものをを用いることもできる。

【0030】

ロードヘッダ2には、キャピラリーに電圧印加するための管状電極19が設けられている。ウインドウユニットではキャピラリーの被覆が除去され、整列した複数のキャピラリーに光照射するための開口28と、キャピラリーから発せられた発光を取り出すための開口29が備えられている。開口29の面と平行方向、つまりウインドウユニットの側面に設けられた開口28からレーザー光を照射する。

【0031】

ここでは塩基長既知のサイズマーカーと呼ばれるDNA断片を測定対象とした。恒温槽温度60℃、キャピラリー本数96本、検出部（ウインドウユニット）と電極先端までの長さを21cmまたは36cmとし、キャピラリー1cmあたりの電圧をキャピラリー長21cmのときは310V、36cmの時は210Vとした。

【0032】

本実施例によるロードヘッダの断面図を図1に示す。接続板20がホルダ18フタ21および管状電極と密着しており、ロードヘッダ内部に空気層が存在しないキャピラリアレイが提供される。このような構造を持ち、キャピラリ長さが21cmのとき、COP平均値は304、キャピラリ（最大値—最小値）／平均値の値は0.4であった。

【0033】

各キャピラリの電気泳動結果をロードヘッダ上の位置に従って並べたものを図7（b）に示す。図7（a）に比べてロードヘッダ中央部に位置するキャピラリの分離能が向上し、全体的なばらつきも少なくなっている。図8（a）にロードヘッダのほぼ中央（図7（a），（b）の6Dに相当する）に位置するキャピラリから得られたシグナルを示す。

【0034】

図8（b）は丸で囲んだピークの拡大図である。ロードヘッダ内部に空気層を持つキャピラリアレイより得られたシグナルを図8（a）に破線で示し、本実施例による図1に示したロードヘッダ内部に空気層のないキャピラリアレイを用いて得られたシグナルを図8（a）に実線で示す。

【0035】

本実施例によるキャピラリアレイから得られたシグナルは、ロードヘッダ内部に空気層を持つキャピラリアレイより得られたシグナルと比較して各ピークの幅が狭いため、分離能が向上している。本実施例によれば、キャピラリ長さ21cmのとき100塩基以上の分離能向上とばらつき低減効果が見られた。

【0036】

キャピラリ長さが36cmの場合、ロードヘッダ内部に空気層の存在するキャピラリアレイを使用すると、COP平均値は599、COPの（最大値—最小値）／平均値の値は0.16であった。一方、図1に示したようなロードヘッダ内部に空気層の無いキャピラリアレイを使用した場合、COP平均値は634、COPの（最大値—最小値）／平均値の値は0.04であった。図8（b）に示すように、空気層がある場合は、ない場合と比べて、半値幅が大きく、それだけ分離能が小さいことがわかる。

【0037】

本実施例によれば、キャピラリ長さ 36 cm のとき 35 塩基分離能向上とばらつき低減効果が見られた。本発明はキャピラリ長さが短いほうが、より大きな効果が期待できる。

【0038】

[実施例 2]

実施例 2 によるキャピラリアレイのロードヘッダの断面図を図 4 に示す。実施例 1 と異なる点は、接続板とホルダ 18 およびフタ 21 との間に熱伝導性グリース 22 を充填することによりロードヘッダ内部に存在した空気層を実質的に排除したことである。このようなキャピラリアレイを使用した場合、キャピラリ長さ 21 cm の場合の COP 平均値は 300、COP の（最大値－最小値）／平均値の値は 0.53 であった。

【0039】

キャピラリ長さ 36 cm の場合はそれぞれ 635、0.05 であった。本実施例により、ロードヘッダ内部に空気層が存在する場合と比較して、キャピラリ長さ 21 cm の場合は、100 塩基以上の分離能向上とばらつきの低減効果が、キャピラリ長さ 36 cm の場合およそ 35 塩基の分離能向上とばらつきの低減効果があった。

【0040】

[実施例 3]

図 5 に実施例 3 のキャピラリアレイのロードヘッダ断面図を示す。実施例 2 との違いは、ホルダ 18 と接続板 20 の間のみに熱伝導性グリース 22 を充填したことである。このようなキャピラリアレイを使用した場合、キャピラリ長さ 21 cm の時の COP 値は 274、（最大値－最小値）／平均値の値は 0.45 であった。キャピラリ長さ 36 cm の場合それぞれ 632、0.06 であった。

【0041】

本実施例により、ロードヘッダ内部に空気層が存在する場合と比較して、キャピラリ長さ 21 cm の時およそ 100 塩基の分離能向上とばらつきの低減効果が、36 cm の場合はおよそ 30 塩基の分離能向上とばらつきの低減効果があった。

【0042】**[実施例4]**

図6に他の実施例によるキャピラリアレイのロードヘッド断面図を示す。実施例2との違いは、接続板20とフタ21の間のみに熱伝導性グリース22を充填したことである。このようなキャピラリアレイを使用した場合、キャピラリ長21cmの時のCOP平均値は270、COPの（最大値－最小値）／平均値の値は0.55であった。

【0043】

以上説明したように、上記実施例によれば、ロードヘッド上のキャピラリ位置に依存した電気泳動結果のばらつき低減と分離能向上が得られる。キャピラリ長が36cmの場合、それぞれCOP平均値は634、COPの（最大値－最小値）／平均値の値は0.05であった。本実施例により、ロードヘッド2内部に空気層が存在する場合と比較して、キャピラリ長21cmの時およそ100塩基の分離能向上とばらつきの低減効果があった。36cmの場合はおおよそ30塩基の分離能向上とばらつきの低減効果があった。

【0044】**【発明の効果】**

本発明によれば、マルチキャピラリ電気泳動装置に使用するマルチキャピラリアレイにおいて、ロードヘッド内部に発生する熱を効果的に外部に発散させることとできる。

【図面の簡単な説明】**【図1】**

本発明の実施例1であるキャピラリアレイのロードヘッド断面図。

【図2】

本発明が適用されるマルチキャピラリ電気泳動装置の概略図である。

【図3】

本発明が適用されるキャピラリアレイ外観図である。

【図4】

本発明の実施例2であるキャピラリアレイのロードヘッド断面図である。

【図 5】

本発明の実施例 3 によるキャピラリアレイのロードヘッド断面図である。

【図 6】

本発明の実施例 4 によるキャピラリアレイのロードヘッド断面図である。

【図 7】

従来のロードヘッドと本発明によるロードヘッドの位置とキャピラリの位置関係と電気泳動結果を示す図。

【図 8】

本発明の実施例 1 によるキャピラリアレイの 6 D に位置するキャピラリより得られたシグナルを示す図である。

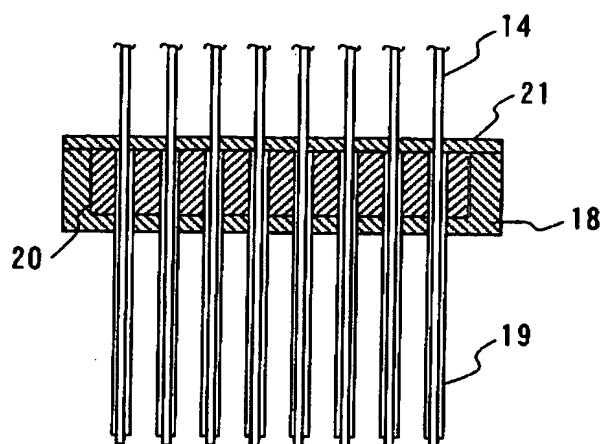
【符号の説明】

2…ロードヘッド、3…恒温槽、4…電源、5…第一緩衝液槽、6…緩衝液、7…ウインドウユニット、8…キャピラリヘッド、9…ポンプユニット、10…第二緩衝液槽、11…電源電極、12…バルブ、13…シリンジ、14…キャピラリ、18…ホルダ、19…管状電極、20…接続板、21…フタ、22…熱伝導性グリース。

【書類名】 図面

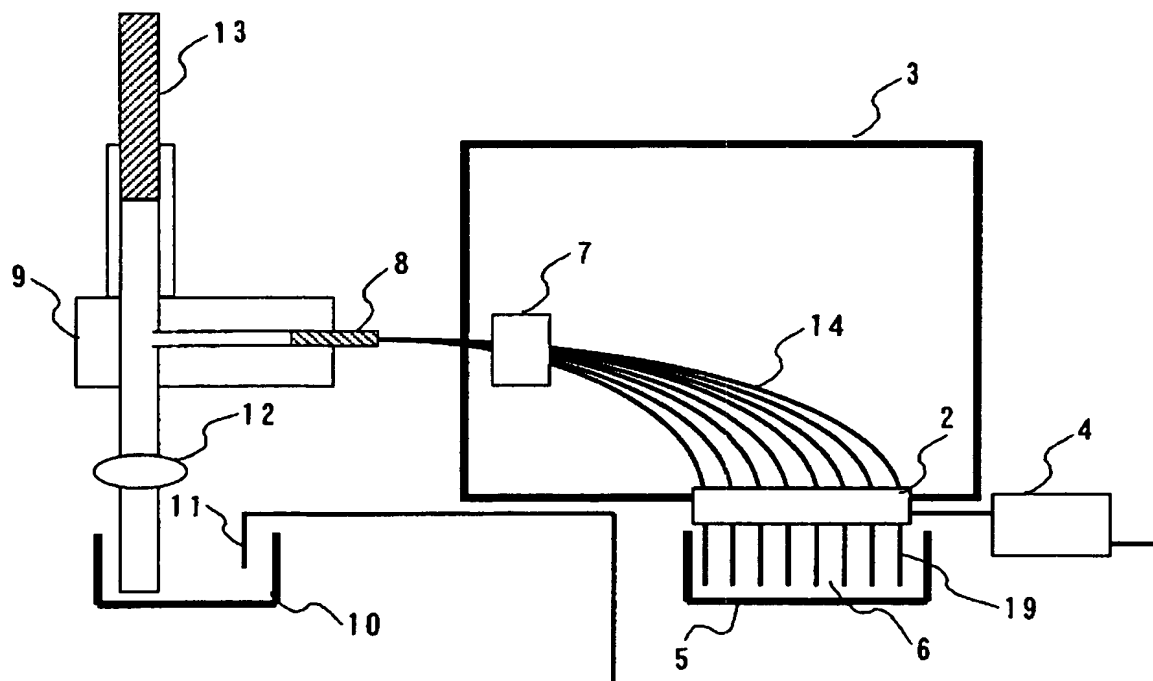
【図 1】

図 1



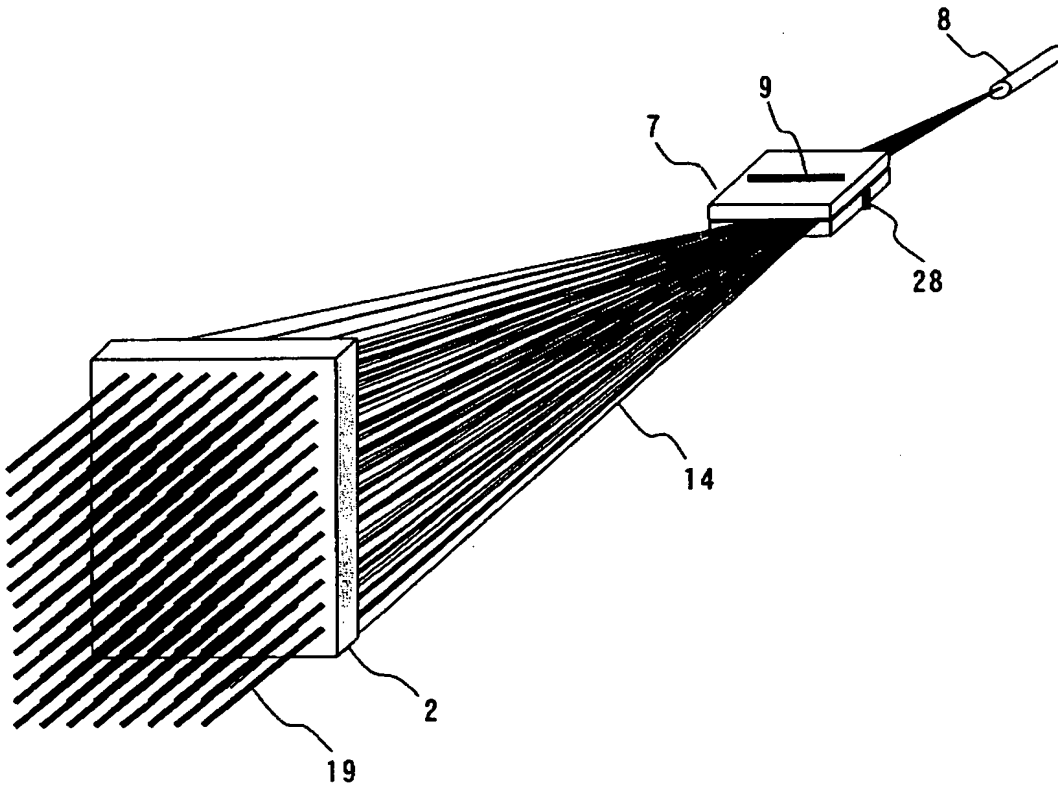
【図 2】

図 2



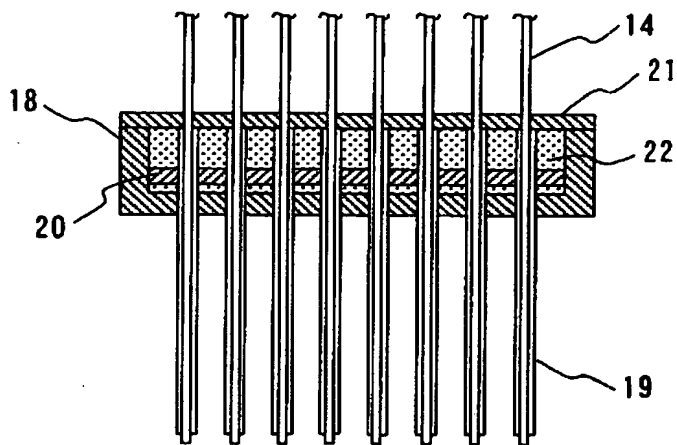
【図 3】

図 3 BEST AVAILABLE COPY



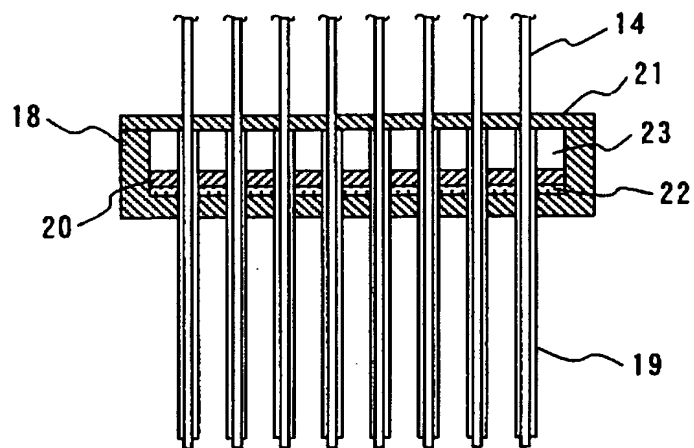
【図 4】

図 4



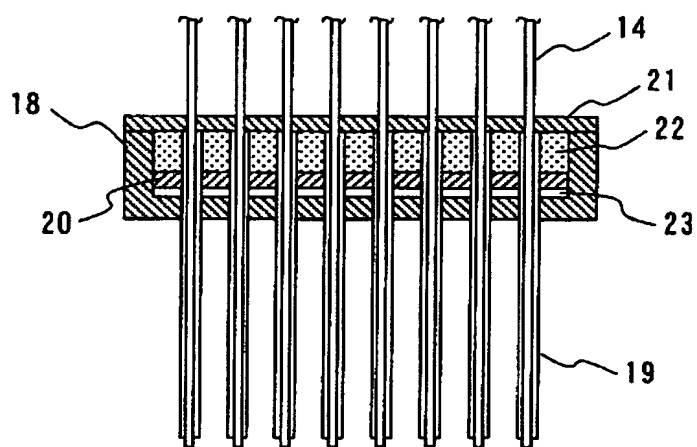
【図 5】

図 5



【図 6】

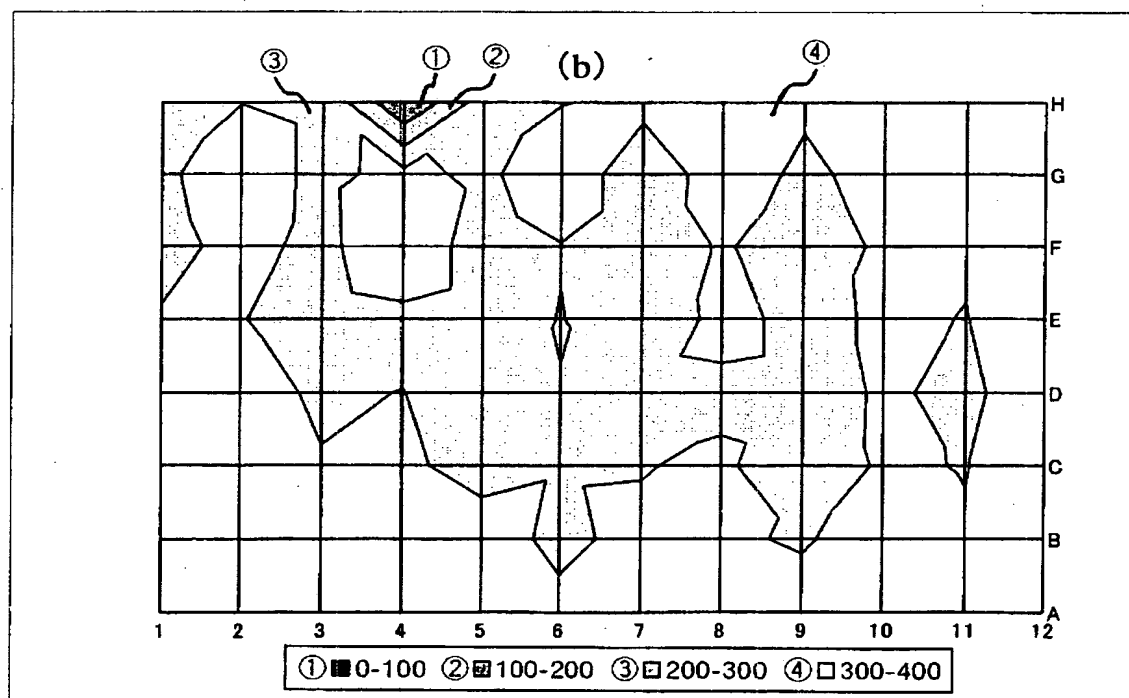
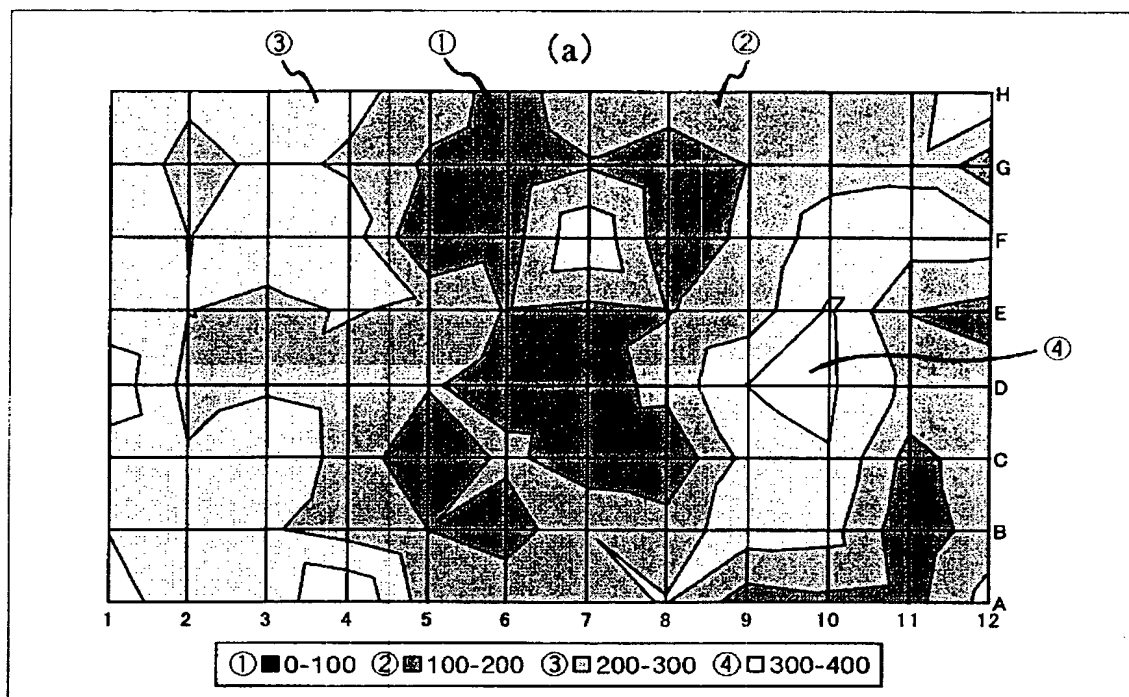
図 6



【図 7】

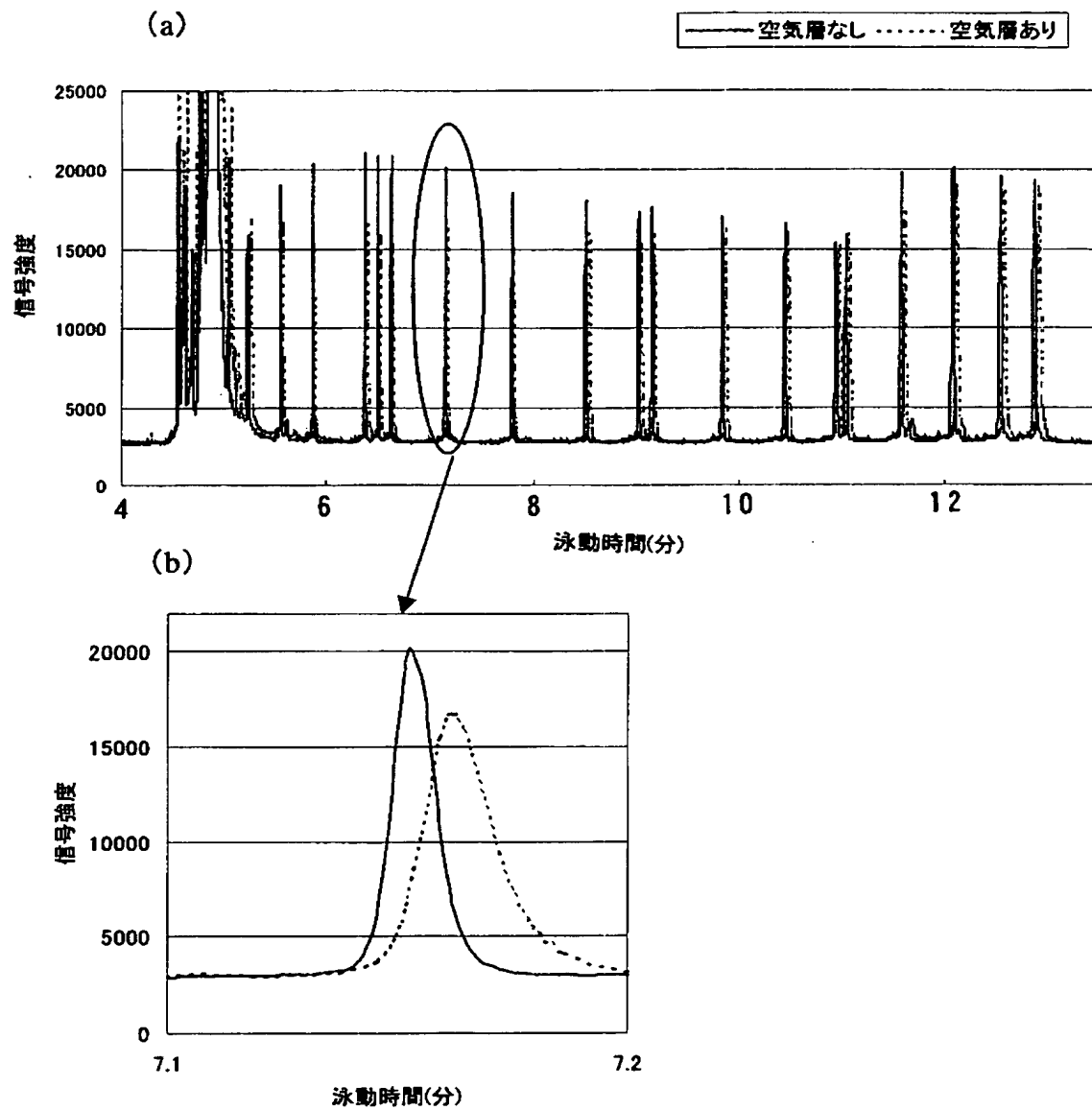
BEST AVAILABLE COPY

図 7



【図 8】

図 8



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 マルチキャピラリ電気泳動装置に使用するマルチキャピラリアレイにおいて、ロードヘッド内部に発生する熱を効果的に外部に発散させること。

【解決手段】 マルチキャピラリ電気泳動に使用するキャピラリアレイのロードヘッドにおいて、絶縁体のホルダ、接続板、及び管状電極を実質的に隙間なく密着させたキャピラリアレイ及び電気泳動装置。ロードヘッド内部の空気層を排除することによりロードヘッド内部で発生する熱を効果的に外部に放散させることができる。

【選択図】 図 1

特願 2 0 0 3 - 0 9 5 3 0 2

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[5 0 1 3 8 7 8 3 9]

1. 変更年月日

2 0 0 1 年 1 0 月 3 日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都港区西新橋一丁目 2 4 番 1 4 号

氏 名

株式会社日立ハイテクノロジーズ